Fig. 1

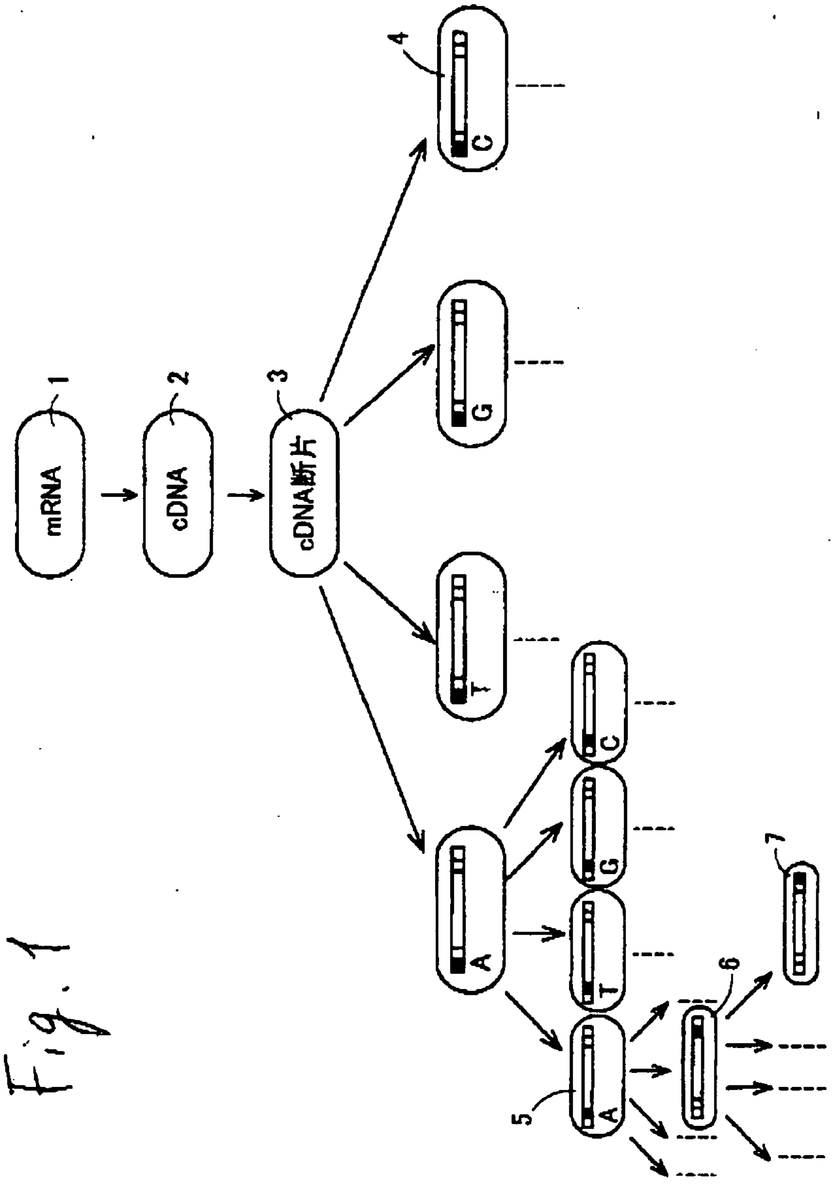

mRNA
1
cDNA
2
cDNA断片
3
4
C
G
T
A
C
G
T
A
5
6
7

Fig. 2

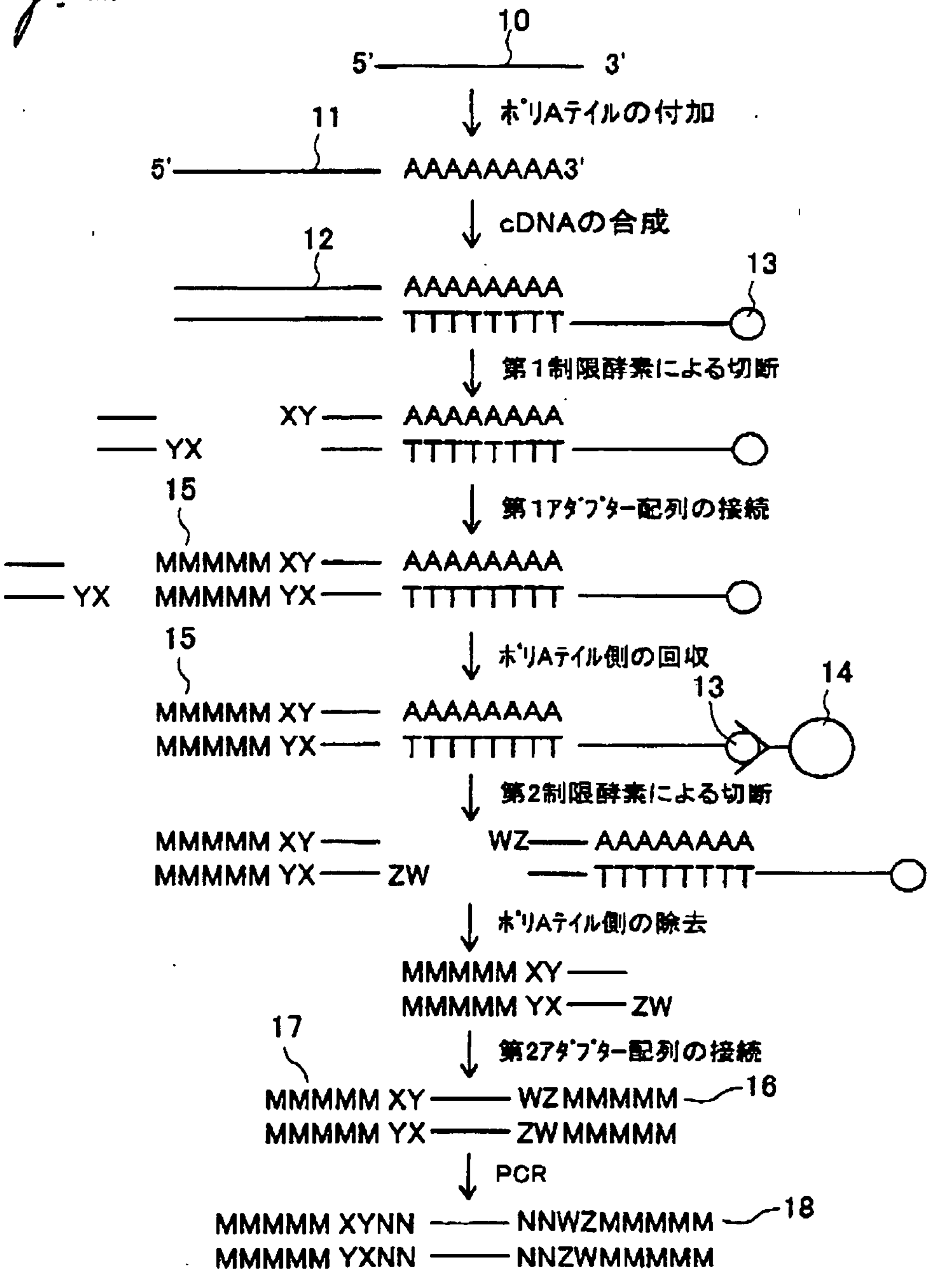

10
5'
3'
ﾎﾟﾘAﾃｲﾙの付加
11
5'
AAAAAAAA3'
cDNAの合成
12
AAAAAAAA
TTTTTTTT
13
第1制限酵素による切断
XY
AAAAAAAA
YX
TTTTTTTT
15
第1ｱﾀﾞﾌﾟﾀｰ配列の接続
MMMMM XY
AAAAAAAA
YX
MMMMM YX
TTTTTTTT
15
ﾎﾟﾘAﾃｲﾙ側の回収
13
14
MMMMM XY
AAAAAAAA
MMMMM YX
TTTTTTTT
第2制限酵素による切断
MMMMM XY
WZ
AAAAAAAA
MMMMM YX
ZW
TTTTTTTT
ﾎﾟﾘAﾃｲﾙ側の除去
MMMMM XY
MMMMM YX
ZW
17
第2ｱﾀﾞﾌﾟﾀｰ配列の接続
MMMMM XY
WZMMMMM
16
MMMMM YX
ZWMMMMM
PCR
MMMMM XYNN
NNWZMMMMM
18
MMMMM YXNN
NNZWMMMMM

Fig. 3

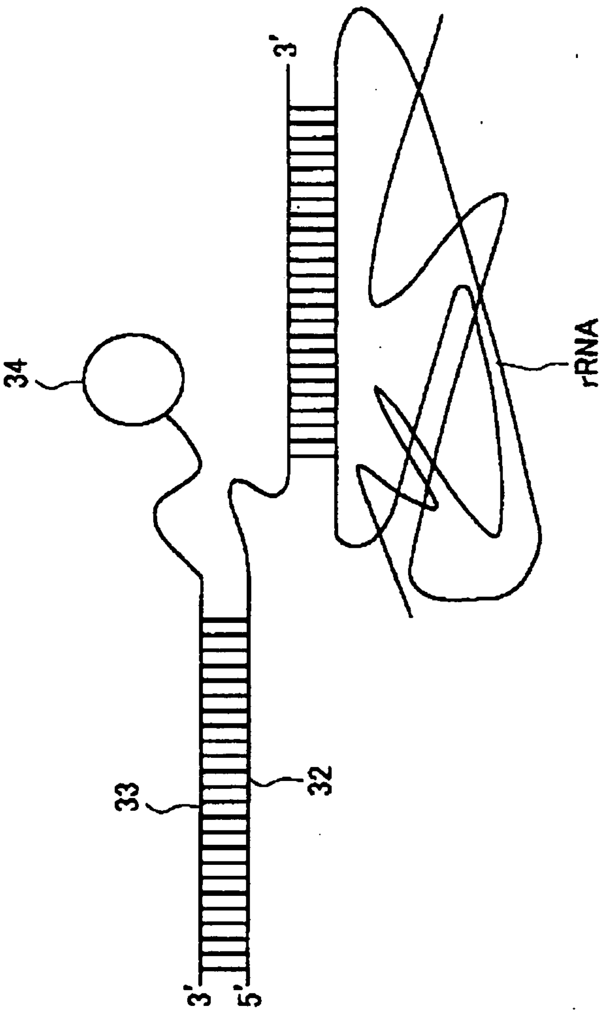

34
33
32
3'
5'
3'
rRNA

Fig. 4

(a) 5'-CTCATAGGATCAGATCAGTTGCG-3'
3'-GAGTATCCTAGTCTAGTCAAC-5'

(b) 5'-GCAATCGCACTTGAACGAT-3'
3'-CGTTAGCGTGAACTTGCTACTAG-5'

Fig. 5

(a) 5'-CATAGGATCAGATCAGTTGCGCNN-3'

(b) 5'-GCACTAGTGCAATCGCACTTGAACGATGATCNN-3'

Fig. 6

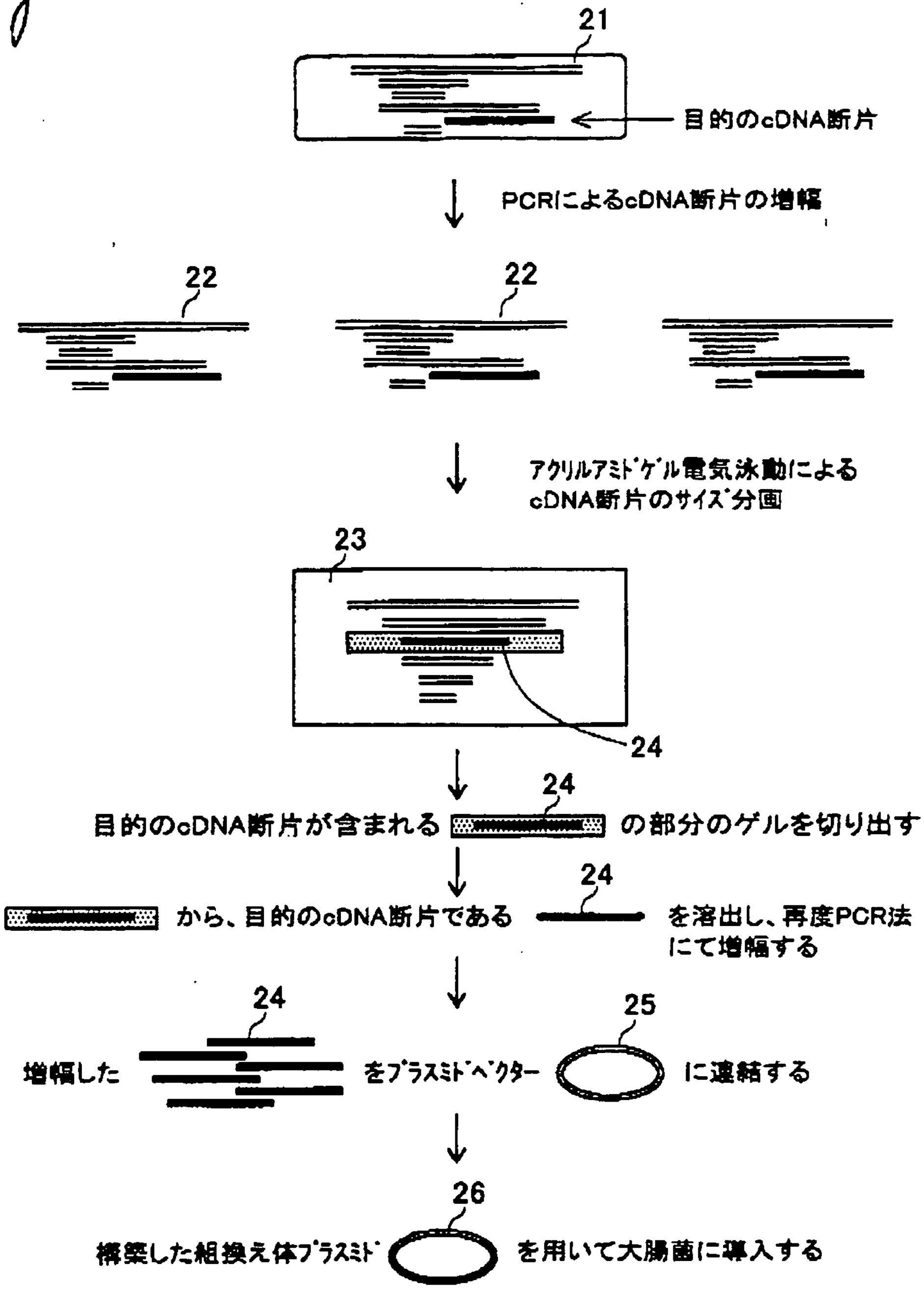
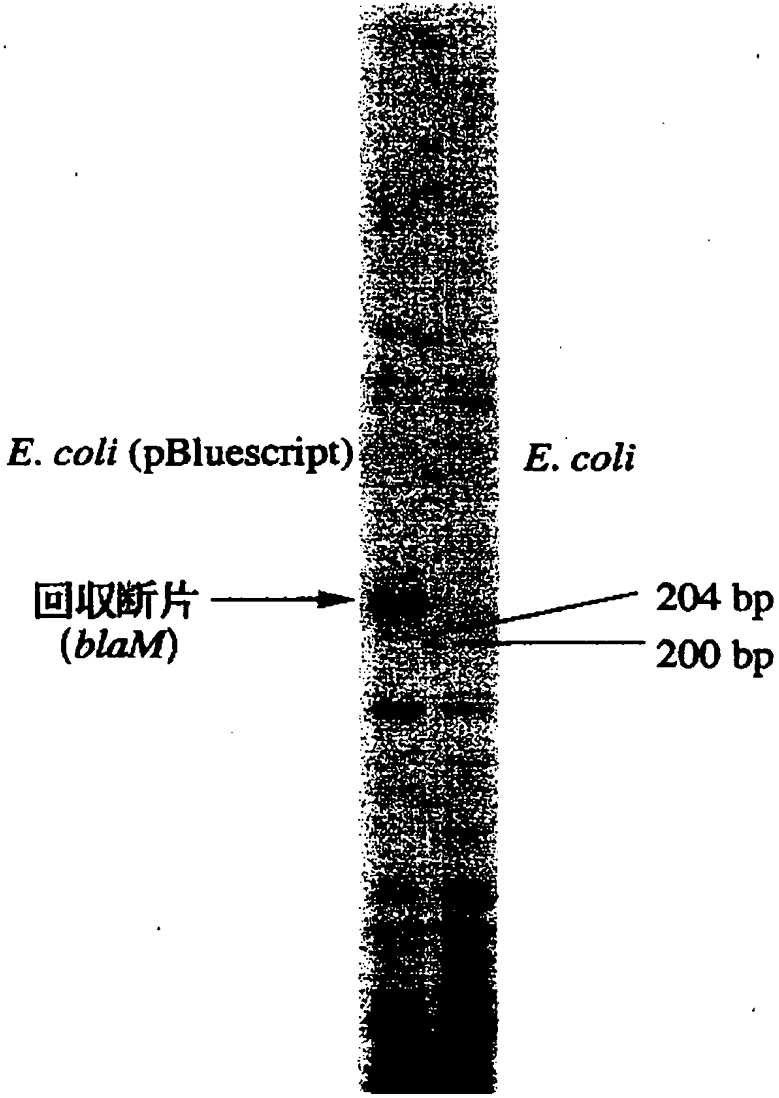

21
目的のcDNA断片
PCRによるcDNA断片の増幅
22
22
ｱｸﾘﾙｱﾐﾄﾞｹﾞﾙ電気泳動による
cDNA断片のｻｲｽﾞ分画
23
24
24
目的のcDNA断片が含まれる
の部分のゲルを切り出す
24
から、目的のcDNA断片である
を溶出し、再度PCR法
にて増幅する
24
25
増幅した
をﾌﾟﾗｽﾐﾄﾞﾍﾞｸﾀｰ
に連結する
26
構築した組換え体ﾌﾟﾗｽﾐﾄﾞ
を用いて大腸菌に導入する

Fig. 7

```
        10        20        30        40        50        60        70        80
ATGAGTATTCAACATTTCCGTGTCGCCCTTATTCCCTTTTTTGCGGCATTTTGCCTTCCTGTTTTTGCTCACCCAGAAAC

        90       100       110       120       130       140       150       160
GCTGGTGAAAGTAAAAGATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGGTAAGA
                         /                                   /                 /
                         Sau3AI                              Sau3AI            Sau3AI

       170       180       190       200       210       220       230       240
TCCTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCC
                                                                   /
                                                                 HhaI

       250       260       270       280       290       300       310       320
CGTATTGACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTCGCCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACTCACCAGTCAC

       330       340       350       360       370       380       390       400
AGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCA

       410       420       430       440       450       460       470       480
ACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAACATGGGGGATCATGTAACTCGCCTT
                /                                             /                /
                Sau3AI                                        Sau3AI

       490       500       510       520       530       540       550       560
GATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGTAGCAATGGCAACAAC
Sau3AI

       570       580       590       600       610       620       630       640
GTTGCGCAAACTATTAACTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAG
   /
  HhaI

       650       660       670       680       690       700       710       720
TTGCAGGACCACTTCTGCGCTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTCT
                /
               HhaI

       730       740       750       760       770       780       790       800
CGCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGGAGTCAGGCAAC

       810       820       830       840       850       860       870
TATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACTGATTAAGCATTGGTAA
                     /
                     Sau3AI
```

Fig. 8


E. coli (pBluescript)
E. coli
回収断片
(*blaM*)
204 bp
200 bp